

ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ ПРОАНТОЦИАНИДИНОВ КОРНЕВИЩ С КОРНЯМИ САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО

Ёриш О.А., Бузук Г.Н.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Сабельник болотный (*Comarum palustre* L.) – многолетнее травянистое растение, широко распространенное в РБ. Химический состав сабельника болотного представлен полифенольным комплексом, в котором преобладают дубильные вещества, главным образом, конденсированные [1]. Конденсированные дубильные вещества – линейные полимерные производные катехинов, лейкоантоцианидинов и других восстановленных форм флавоноидов [2]. Помимо высокополимерных, в

растениях также содержатся олигомерные производные проантоцианидинов со степенью полимеризации 1-10.

Цель. Разработка метода фракционирования проантоцианидинов сабельника болотного, не требующего сложного оборудования и позволяющего количественно охарактеризовать каждую фракцию; и определение доминирующей группы проантоцианидинов с определенной степенью полимеризации.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали корневища с корнями сабельника болотного, заготовленные в сентябре 2006 г. в местах естественного произрастания в окрестностях г. Витебска Республики Беларусь.

Около 0,5 г сырья (точная навеска), измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром 0,25 мм, экстрагировали 20 мл 70% этилового спирта на кипящей водяной бане в течение 20 минут. Готовое извлечение охлаждали и центрифугировали со скоростью 1000 об/мин в течение 15 минут.

Фракционирование проводили на колонке, содержащей 500 мг полиамида. Колонку предварительно кондиционировали 10 мл дистиллированной воды, а затем 10 мл метанола. После этого через полиамид пропускали 10 мл спиртового извлечения сабельника болотного. Фракционирование проводили по следующей схеме (табл. 1).

Таблица 1 - Схема фракционирования проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного

фракция	элюат	элюирующий об-ем	название фракции
I	96% этанол	4×10 мл	флавоноиды
II	96% этанол:ацетон:вода 80:16:4	8×10 мл	олигомеры проантоцианидинов (2-8)
III	ацетон:вода 70:30	1×10 мл	полимеры проантоцианидинов (>8)

Фракция I: пропускали 4 порции 96% этанола по 10 мл, первую порцию собирали, остальные три отбрасывали.

Фракция II: пропускали 8 порций элюирующей смеси по 10 мл, первую порцию собирали, остальные семь отбрасывали.

Фракция III: пропускали 10 мл элюирующей смеси и фракцию собирали [3].

Каждую фракцию высушивали под вакуумом при 40°C и сухой остаток растворяли в 1 мл 96% этанола.

Определение содержания дубильных веществ конденсированной группы во фракциях проводили по модифицированной методике Porter, в основе которой лежит кислотное расщепление процианидинов до антоцианидинов в присутствии катализатора (ионов Fe^{3+}) [4].

Результаты исследования. По результатам количественного определения доминирующей группой являются олигомеры проантоцианидинов со степенью полимеризации 2-8 (фракция II): фракция I-4,1%, фракция II-6,0%, фракция III-0,1%

Далее нами проводилось хроматографическое исследование полученных фракций.

На линию старта пластинки «Сорбфил ПТСХ-В» наносили с помощью градуированного капилляра по 2 мкл каждой фракции в виде полоски: длиной 5 мм и шириной 5 мм.

Хроматографическую пластинку помещали в камеру, которую предварительно насыщали в течение 2 часов смесью растворителей этилацетат: метанол: вода: муравьиная кислота (8,5:0,3:0,35:0,4).

Пластинку хроматографировали восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 10 см, пластинку вынимали из камеры, и сушили на воздухе до полного удаления растворителей.

Проявляли хроматограмму следующим образом: опрыскивали 1 % раствором ванилина в этиловом спирте, затем погружали на 1-2 мин в 10% раствор серной в этиловом спирте. Обработанную хроматограмму выдерживали в сушильном шкафу при 100-105°C. Появление на хроматограмме зон, окрашенных в красный цвет, свидетельствует о содержании во фракциях проантоцианидинов.

Таблица 2 - Значения Rf хроматографических пятен выделенных фракций проантоцианидинов

фракция	Rf	
	I	II
I	71-77	40-49
II	50-56	
III	28-32	

Согласно литературным данным [5] 70% водный раствор ацетона обладает высокой элюирующей способностью и позволяет практически полностью десорбировать с полиамида сумму проантоцианидинов. На рисунке 1 представлена хроматограмма суммы проантоцианидинов, полученной путем элюирования 70% водным ацетоном сорбированного на полиамиде спиртового извлечения корневищ с корнями и сабельника болотного. Наличие четырех хроматографических зон со значениями Rf соответствующими значениям Rf хроматографических пятен, полученных путем хроматографирования отдельных фракций проантоцианидинов сабельника болотного, подтверждает полноту фракционирования по предложенной методике.



Рис. 1. Хроматограмма суммы проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного.

Выводы Разработана методика фракционирования проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного, не требующая применения сложного оборудования и позволяющая количественно охарактеризовать каждую фракцию.

Определена доминирующая группа проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного: олигомеры проантоцианидинов со степенью полимеризации 2-8.

Литература

- 1 Люкшенкова, Е.Я. Фармакологическое изучение сабельника болотного (*Comarum palustre* L.) / Е.Я. Люкшенкова, М. Георгию, Э.А. Бурдыкина-Шехтер // Аптечное дело. – 1962 – Вып. 2 – С. 34-43.
- 2 Miami University's centralized web server for personal web pages [Electronic resource] / Professor Ann E. Hageman – Tannin Chemistry – Oxford, 2002. – mode of access: <http://www.users.muohio.edu/hagemae/tannin.pdf> – Date of access: 1.10.2006.
- 3 Kathrin, Koll. Optimierung und Validierung dünnschichtchromatographischer Verfahren in der Qualitätsanalytik von Phytopharmaka: die ... zur Erlangung des Doktorgrades / Koll Kathrin – Bonn, 2004. – 104 С.
- 4 Ершик, О.А. Количественное определение проантоцианидинов в сабельнике болотном *Comarum palustre* L. / О.А. Ершик, Г.Н. Бузук // Вестник Фармации – 2007. – № 4. – С. 22-25.
- 5 B. V. Chondler, T. Swain // Nature. – 1959. – Vol. 183. – С. 989.